植 物 分 类 与 资 源 学 报 2013, 35 (1): 41~47
Plant Diversity and Resources DOI: 10.7677/ynzwyj201312046

拟南芥 WRKY68 转录调控因子的表达谱分析

王学兰[1], 林良斌[1], 余迪求[2*]
(1 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 2 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 昆明 650223)

摘要: *WRKY* 基因家族是主要存在于植物中的转录因子, 拟南芥中至少有 74 个成员。根据锌指结构特征和 *WRKY* 结构域的数目, 可以将 WRKY 转录因子分为三大类。拟南芥 *WRKY68* 属于第Ⅱ类 WRKY 蛋白。通过 GUS 染色和 qRT-PCR 分析各组织部位的表达情况, 发现 *WRKY68* 在根中的表达量是最高的, 其次是幼嫩的叶片和老的荚果中。各种处理条件下的表达水平显示, IAA 和高温处理后, *WRKY68* 的表达明显上调, *PstDC3000*、JA、SA、NAA 轻微诱导 *WRKY68* 的表达, 而 *Botrytis*、NaCl、甘露醇、PEG、脱水、ACC、ABA 抑制 *WRKY68* 的表达, 根据以上实验结果, 我们推测 *WRKY68* 可能参与生长素和温度调控的植物形态建成及发育过程。

关键词: *AtWRKY68* 转录因子; GUS 染色; 生物逆境; 非生物逆境; 植物激素
中图分类号: Q 75 **文献标识码**: A **文章编号**: 2095-0845(2013)01-041-07

Expression Profiles of *Arabidopsis* WRKY68 Transcription Factor

WANG Xue-Lan[1], LIN Liang-Bin[1], YU Di-Qiu[2*]
(1 *College of Agronomy and Biotechnology*, *Yunnan Agricultural University*, Kunming 650201, China;
2 *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650223, China)

Abstract: The transcription factors WRKY protein superfamily are mainly presented in plants, which contains at least 74 members in *Arabidopsis*. It can be classified into three groups according to the number of WRKY domains and the features of their zinc-finger-like motif. *Arabidopsis* WRKY68 is one of the group Ⅱ WRKY proteins. GUS staining and qRT-PCR analysis showed that the expression of *WRKY68* in roots was the highest in all tissues and the second was in old siliques and young leaves. The expression profiles indicated that the expression levels of *WRKY68* were elevated by IAA and heat treatments, and slightly induced by *PstDC3000*, JA, SA, NAA while which were inhibited by other treatments including *Botrytis*, NaCl, mannitol, PEG, dehydration, ACC, ABA. These results suggested that *WRKY68* might be involved in plant morphogenesis and development which is regulated by auxin and temperature.

Key words: *AtWRKY68*; GUS staining; Biotic stress; Abiotic stress; Plant hormones

转录调控因子 *WRKY* 基因家族是主要存在于植物中的超级基因家族, 在其蛋白质 N-端含有高度保守的氨基酸序列 WRKYGQK 和 CX_{4-5} CXnHXH (X 为任一氨基酸) (Eulgem 等, 2000; Yu 等, 2001), 并通过结合靶基因启动子区域 W 盒 (C/T) TGAC (C/T) 核苷酸序列而调控相应基因的表达, 发挥其分子生物学功能 (Yang 等, 1999; 余迪求等, 2006)。现有的研究表明, *WRKY* 基因不仅参与植物生理代谢和形态建成, 还参与植物的逆境反应。*WRKY* 基因参与众多代谢过程, 如 *AtWRKY4* 和 *AtWRKY34* 参与糖代谢信号途径 (Hammargren 等, 2008); *AtWRKY44* 参与调控拟南芥种皮单宁酸的合成 (Johnson 等, 2002)。*WRKY* 基因家族对植物的形态建成有调控作用, *AtWRKY44* 对表皮毛状体的形态建成和根毛细胞的分化有作用 (Johnson 等, 2002; Ishi-

* 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: ydq@xtbg.ac.cn
收稿日期: 2012-04-04, 2012-05-25 接受发表
作者简介: 王学兰 (1984-) 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物分子生物学研究。

da 等, 2007); 抑制拟南芥 *WRKY75* 的表达有利于不定根和根毛的生长 (Devaiah 等, 2007); 拟南芥 *WRKY10* 能调控种子的大小 (Luo 等, 2005)。*WRKY* 基因还调控植物的非生物和生物逆境。植物的非生物逆境包括干旱、高温、冷害、缺素、盐害、伤害等。本实验室从低温 (4 ℃) 诱导的水稻叶片 cDNA 文库中克隆获得了 13 个 *WRKY* 基因, 其中 10 个 *WRKY* 基因的表达受到 NaCl、PEG、低温 (4 ℃) 和高温 (42 ℃) 等非生物逆境因子的影响 (Qiu 等, 2004)。实验表明 *WRKY6* 的表达受低 Pi 诱导 (Chen 等, 2009)。本实验室的研究结果显示 *AtWRKY34* 调控成熟花粉粒对冷的响应 (Zou 等, 2010)。*AtWRKY22* 参与调控黑暗诱导的叶片衰老 (Zhou 等, 2011)。*AtWRKY2* 参与调控渗透胁迫反应 (Jiang 和 Yu, 2009)。*AtWRKY25*、*AtWRKY26*、*AtWRKY33* (Li 等, 2011)、*AtWRKY39* (Li 等, 2010) 参与与植物对热诱导的响应。高表达 *AtWRKY25*、*AtWRKY33* 拟南芥植株具有耐盐性, 同时也表现出对 ABA 更为敏感 (Jiang 和 Deyholos, 2009)。有很多 *WRKY* 基因参与调控植物的生物逆境, 如参与植物的抗病反应等。对 72 个拟南芥 *WRKY* 基因的表达谱进行分析, 发现其中有 49 个基因受 SA 或无毒假单胞杆菌 (*PstDC3000*) 的诱导 (Dong 等, 2003)。*WRKY33* 在植物病原菌抗性中有很重要的作用 (Zheng 等, 2006; Lai 等, 2011)。*AtWRKY52* 的突变造成对含菌土壤的高度敏感, 暗示其参与了天然免疫过程 (Noutoshi 等, 2005)。*WRKY8* 与拟南芥的基础抗性有关 (Chen 等, 2010)。*AtWRKY46* 与 *AtWRKY70* 及 *AtWRKY53* 协同作用调控拟南芥对病原菌的基础抗性 (Hu 等, 2012)。此外, 还有研究表明, *WRKY* 还可以调控植物的衰老, 如 *AtWRKY6* 和 *AtWRKY53* 调控植物衰老相关基因 *SIRK* (Robatzek 和 Somssich, 2002; Miao 和 Zentgraf, 2007; Zentgraf 等, 2010)。综上所述, *WRKY* 基因在植物的整个生命活动过程中起着非常重要的作用。

研究显示 *WRKY68*、*WRKY23* 和 *WRKY50* 的氨基酸序列的相似性程度高 (Dong 等, 2003)。研究表明 *WRKY23* 的表达受 NAA 的诱导, 对线虫的取食位点有影响, 敲除 *WRKY23* 的植物导致线虫的低感染 (Grunewald 等, 2008)。但是, 到目前为止, *WRKY68* 基因功能方面的研究尚未有报道。我们利用定量 RT-PCR, GUS 染色等技术分析 *WRKY68* 基因的表达情况, 以初步探究 *WRKY68* 的功能。实验结果表明, *WRKY68* 受 IAA 和高温诱导, 可能与生长素和温度调控的植物形态建成及发育等有关。

1 材料和方法

1.1 实验材料

选用哥伦比亚生态型拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* Col.) 为实验材料。拟南芥种子表面用漂白水灭菌后均匀散布在 MS 培养基上 (含 0.85% 的卡拉胶), 4 ℃春化 3 d 后放在 22 ℃温室中培养 7 d 然后移栽到混合土里。生长条件为相对湿度 55%, 短光照 (光照时间 8:00–18:00) 条件下生长。用于各种处理表达分析的野生型材料的苗龄为 4 ~ 5 周, 处理后将取得的材料存放于 −80 ℃冷冻保存。用于组织部位表达分析的材料从同一批野生型材料中获得。

1.2 质粒构建与农杆菌转化

通过 PCR 从野生型拟南芥 (WT) 基因组扩增获得 *WRKY68* 的启动子序列。将 *WRKY68* 启动子序列插入到质粒 pJS131B 中 GUS 报告基因表达框之前, 经测序正确后进一步克隆到表达载体 pOCA28 上, 记为 *pWRKY68*::*GUS*。将构建好的重组质粒转化到农杆菌 GV3101 中, 使用花序浸染法转化野生型植株 (Clough 和 Bent, 1998)。将收到的种子播于 1/2MS 板上 (含 50 $ug \cdot ml^{-1}$ Kanamycin), 绿色苗即为转基因植株。

1.3 GUS 染色

参照本实验室的操作手册进行 GUS 染色。用预冷的 90% 丙酮于冰上固定材料 20 min, 用 GUS Staining solution (without X-Gluc) 漂洗固定后的材料 3 次 (在冰上进行), 然后放入 GUS Staining solution (with X-Gluc) 中, 并于冰上避光抽真空 10 min, 最后于 37 ℃下放置过夜。用 70% 酒精脱色后拍照。

1.4 定量 RT-PCR

从 4 ~ 5 周苗龄的野生型拟南芥获得了根、茎、叶、花和荚果及各种处理材料, 用 TRIZOL 试剂盒及水饱和酚法提取总 RNA, 并进行 DNaseI消化, 用来进行定量 RT-PCR 实验。定量 RT-PCR 的引物为 *WRKY68* (AT3G62340): 5′-ATTCATCACGAGGAGTGAGGTT-3′ 和 5′-CAAGTTGTTGTGCAACGGTAAT-3′; *ACT2* (AT3G18780): 5′-TGTGCCAATCTACGAGGGTTT-3′ 和 5′-TTTCCCGCTCTGCTGTTGT-3′。定量 PCR 的反应体系 (20 μL): 10 μL SYBR Green I 反应混合物, 8.2 μL ddH_2O, 每条引物各 0.4 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 和 1 μL cDNA。退火温度为 50 ℃, 在 Roche

LightCycler real-time PCR 仪上进行了定量 PCR 实验。整个定量 PCR 实验用不同的 RNA 样品重复 3 次。

2　结果与分析

2.1　*AtWRKY68* 基因在不同组织器官中的表达分析

为了明确 *WRKY68* 在各组织部位的表达量，我们用野生型拟南芥的根、茎、莲座叶、茎生叶、花序、荚果进行实验。提取 RNA 后反转录，用定量 RT-PCR 方法检测 *WRKY68* 在不同组织器官中的表达。实验结果显示 *WRKY68* 在根、茎、叶、花、荚果中都有表达，相对来说，在根中的表达量最高，达到 132.6，其次是老的荚果中，在花中的表达量最低，仅有 0.0364（图 1）。

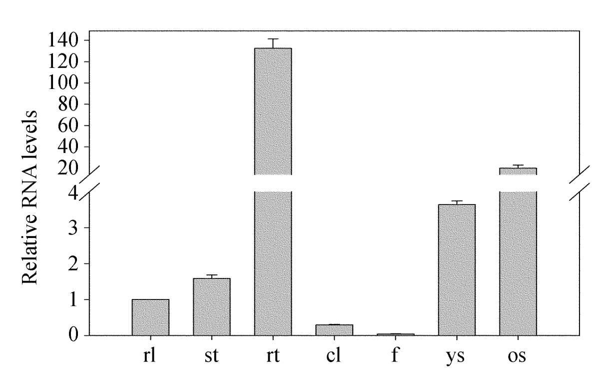


图 1　*WRKY68* 在不同组织器官中的表达分析

Fig. 1　Expression analysis of *WRKY68* in different organ and tissue

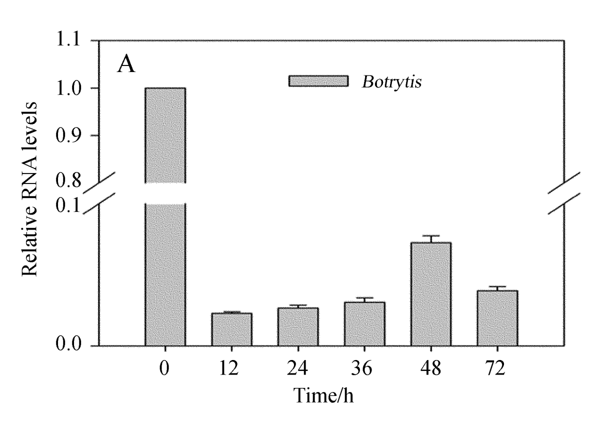
rl，rosette leaves；st，stem；rt，root；cl，cauline leaf；f，flowers；ys，young siliques；os，old siliques

2.2　生物逆境条件下 *AtWRKY68* 的表达分析

大量研究工作证实大多数 WRKY 蛋白主要参与了植物从基础免疫到获得性抗性的多种抗病反应之中，通过调控多通路多层次的抗病信号转导途径影响植物对病原物的生理反应，在植物与病毒、细菌、真菌、线虫以及昆虫的相互作用过程中发挥重要作用（Eulgem，2005）。当植物受病原菌侵染时，植物体内会发生一系列的生理生化变化产生抵抗病原菌的防御机制。为了探究 *WRKY68* 对生物逆境的响应情况，我们用真菌 *Botrytis* 和无毒假单胞菌 *PstDC3000* 处理野生型拟南芥。具体操作是用浓度为 2.5×10^5 spores/mL 的孢子悬浮液喷施 4 周大的拟南芥野生型植株，并高度保湿，然后分别于 6、12、24、36、48、72 h 后收集材料，经提取 RNA 反转录后用定量 RT-PCR 分析；用悬浮于 10 mmol·L^{-1} $MgCl_2$ 的 OD600＝0.0001 的 *PstDC3000* 溶液注射 4 周大的拟南芥植株，注射 6、12、24、48、72 h 后收集注射叶片，提取 RNA 反转录后用于定量 RT-PCR 分析。结果显示（图 2）：*WRKY68* 的表达被 *Botrytis* 强烈抑制（约 50 倍）而受 *PstDC3000* 的轻微诱导（约 2.7 倍），这说明 *WRKY68* 有可能在对 *Botrytis* 和 *PstDC3000* 抗性中发挥作用。

2.3　*AtWRKY68* 在非生物逆境条件下的表达分析

为了确定 *WRKY68* 在非生物逆境过程中是否起作用，我们分别用 42 ℃、NaCl（0.1 mol·L^{-1}）、甘露醇（15%）、聚乙二醇（25%）、脱水（将拟南芥植株剪取后放入置于室温干燥的培养皿）处理野生型拟南芥植株，按照时间点取材后提取 RNA。定量 RT-PCR 结果显示（图 3）：*WRKY68* 的表达受高温的强烈诱导，大约诱导 100 倍。而 NaCl、甘露醇（mannitol）、聚乙二醇（PEG）、脱水（dehydration）都抑制 *WRKY68* 的表达。NaCl、



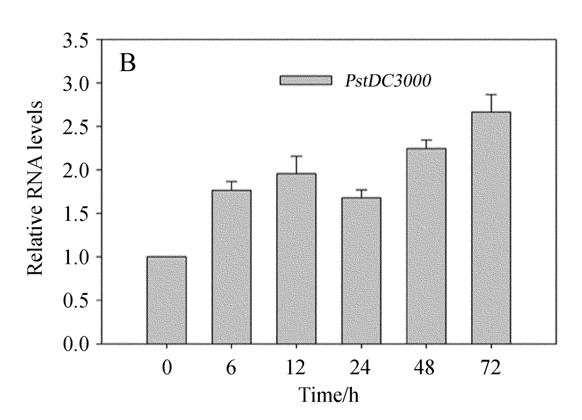
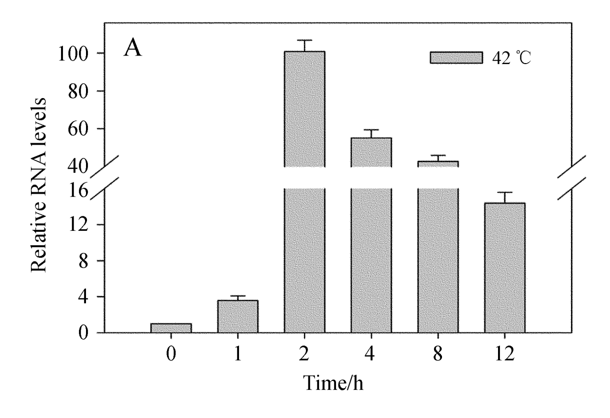


图 2　*WRKY68* 在生物逆境条件下的表达分析

Fig. 2　Expression analysis of *WRKY68* by biotic stress treatments



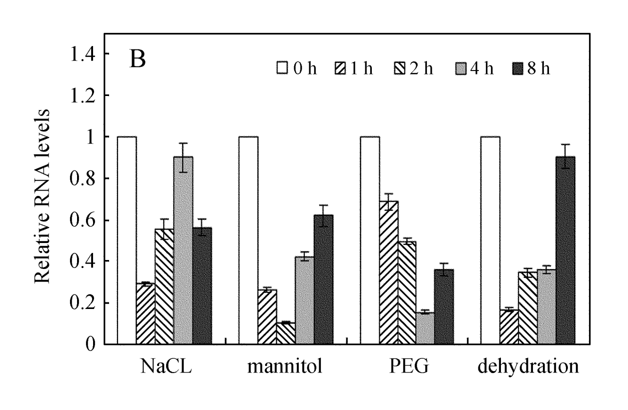


图3 *WRKY68* 在非生物逆境条件下的表达分析

Fig. 3 Expression analysis of *WRKY68* by abiotic stress treatments

甘露醇（mannitol）、聚乙二醇（PEG）都能引起渗透胁迫，我们的实验结果说明 *WRKY68* 可能参与高温胁迫，而不参与盐害、干旱、渗透胁迫等非生物胁迫。

2.4 植物激素处理条件下 *WRKY68* 的表达分析

植物激素在植物的正常生长和发育及应对胁迫的过程中起着很重要的作用。现有的研究表明JA、SA、ET参与植物抗病性，ABA与种子的萌发和渗透胁迫有关，ACC与氧化胁迫相关，而NAA和IAA参与植物发育方面的很多过程。我们分别用MeJA（0.1 mmol·L^{-1}），ACC（0.1 mmol·L^{-1}），ABA（0.1 mmol·L^{-1}），SA（2 mmol·L^{-1}），IAA（0.1 mmol·L^{-1}）和NAA（0.1 mmol·L^{-1}）喷洒野生型拟南芥材料并分别于处理后6、12、24、48、72 h收集材料。提取RNA反转录后定量RT-PCR分析显示（图4），*WRKY68* 的表达受IAA明显诱导（约6倍），NAA、JA、SA的轻微诱导，ACC和ABA的明显抑制，说明 *WRKY68* 可能参与生长素调控的植物形态建成和发育等。

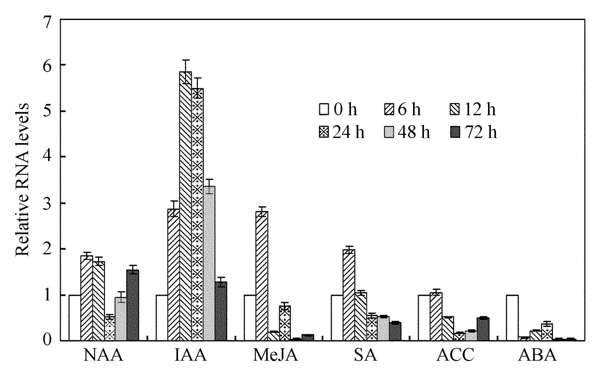


图4 激素处理后 *WRKY68* 的表达分析

Fig. 4 Expression analysis of *WRKY68* by hormones treatments

2.5 *pWRKY68∷GUS* 转基因植物中GUS表达情况

通过基因克隆和遗传操作技术获得了 *pWRKY68∷GUS* 融合基因表达载体。通过农杆菌介导法，并用1/2MS-Kan板筛选获得含有 *pWRKY68∷GUS* 融合表达载体的转基因植株，经过繁殖，再次筛选获得T2代纯合转基因植株，用于后续实验。我们用获得的转基因植株的幼苗（14天左右的苗岭）和开花期苗进行GUS染色分析，结果显示：*WRKY68* 启动子驱动的GUS仅在根、幼苗的嫩叶片中有表达（图5：A），而在花序、荚果，老叶片中看不到GUS染色。这些结果与我们的定量RT-PCR结果一致。

根据我们的实验结果 *WRKY68* 受IAA的诱导，于是我们就用天然生长素IAA（0.1 mmol·L^{-1}）溶液分别处理了 *pWRKY68∷GUS* 转基因植株幼苗和开花期苗，并于处理12 h后进行GUS染色分析。结果显示IAA处理幼苗后，未处理前看不到GUS染色的荚果和叶片能看到明显染色（图5：C，D），并且与未处理的GUS染色相比 *WRKY68* 在根和幼苗的嫩叶中表达增强（图5：B），尤其在根尖的表达很强。我们发现IAA处理后 *WRKY68* 在荚果的基部和叶脉及叶柄处都有表达，而花序经IAA处理后还是没有观察到GUS染色。以上结果再次证实 *WRKY68* 受IAA的诱导，实验现象与我们的定量RT-PCR结果一致。有研究表明与 *WRKY68* 亲缘关系最近的 *WRKY23* 受NAA的诱导并与生长素的极性运输有关（Grunewald等，2012）我们推测 *WRKY68* 或许也有这方面的功能。



图 5 *pWRKY68*∷*GUS* 转基因植株的 GUS 染色情况

A. 16 天大的幼苗；B. 12 天大的幼苗；C. 果荚；D. 茎生叶

Fig. 5 GUS staining of *pWRKY68*∷*GUS* transgenic plants

A. 16 d-old seedling; B. 12 d-old seedling; C. siliques; D. cauline leaves

3 讨论

AtWRKY68 作为第Ⅱ类 WRKY 蛋白，目前其基因功能的研究没有相关报道。本研究采用定量 RT-PCR 检测了 *WRKY68* 在不同组织器官中的表达，结果显示 *WRKY68* 在根、茎、叶、花、果荚中都有表达，但在根中的表达量较高，叶和果荚中的表达次之，在花中的表达量最少，而且在老的果荚中的表达量比幼嫩的果荚中高。GUS 染色分析显示 *WRKY68* 在根和幼嫩的叶中有表达，与定量 RT-PCR 的结果一致。

植物的生长时刻面临着生物和非生物逆境，植物激素对植物的正常生长起着很重要的作用，当植物处于逆境时，植物体内的激素可能会发生变化，从而通过影响植物的生理生化活动来产生抵御胁迫的能力。为了研究 *WRKY68* 的诱导表达情况，我们分析了 *WRKY68* 在不同处理条件下的表达情况。我们以拟南芥莲座叶为处理材料，首先分析了 *WRKY68* 基因对生物逆境 *PstDC3000* 和 *Botrytis* 的响应，*WRKY68* 受 *PstDC3000* 轻微诱导而受 *Botrytis* 的强烈抑制。非生物逆境和激素（NaCl、高温、甘露醇、PEG、聚乙二醇、脱水、IAA、MeJA、SA、ABA、NAA、ACC）处理条件下的结果显示 *WRKY68* 的表达受 IAA 和高温的明显诱导，受 MeJA、SA、NAA 的轻微诱导和其它因素的抑制。另外，我们还分析了 IAA 处理后 *pWRKY68*∷*GUS* 的染色情况，结果与我们的定量 RT-PCR 一致，说明 *WRKY68* 的表达受 IAA 诱导。

生长素（Auxin）是最早被发现的植物激素，在植物的生长和发育过程中发挥着重要的作用。生长素影响植物细胞的分裂、分化及伸长，植物向光性和向地性反应，下胚轴和主、侧根的发育，维管组织的发育和根毛的形成，以及花和叶片的发育等，对植物早期的发育和形态建成都具有重要意义。生长素的极性运输、稳态调控和信号转导影响叶片发育的过程。如生长素的相关基因 *PIN1*、*IAA18*、*YUCCA* 等都能调控叶片的发育。外源生长素对暗培养条件下植物下胚轴的伸长无影响，但是在光照条件下，生长素的合成引起下胚轴长度的增加。*PINOID* 正调节拟南芥根毛细胞的生长素外运，根毛细胞过量表达 *PID* 抑制根毛生长（Lee 和 Cho，2006）。大量的研究表明生长素调控侧根的起始和伸长。生长素相关突变体 axr1、axr4 及 iaa28-1 的侧根数量明显减少（Rogg 等，2001）。pin1 突变体在其整个发育过程中都表现出多向性的缺失，且通常不会开花，表明生长素对花原基的形成起到了重要作用。*pin1* 基因编码跨膜转运蛋白，并参与了生长素的极性运输（Wiśniewska 等，2006）。

许多植物在生殖发育时期对温度都非常敏感，易受高温的影响。很多实验表明温度影响生长素的合成和代谢，在高温逆境条件下，植物体内的生长素含量会有不同程度的变化。水稻灌浆期遭受高温逆境时，生长素等激素的含量降低而导致结实率下降，这也是我国粮食减产的原因之一。研究表明高温抑制大麦（*Barley*）和拟南芥花药发育过程中生长素合成基因 *YUCCA* 的表达，从而抑制了线粒体和叶绿体中 DNA 的复制（Oshino 等，2011）。还有研究表明向日葵热激效应因子 *HaHSFA9* 是 Aux/IAA 蛋白阻遏子 *HaIAA27* 的靶基因，*HaHSFA9* 与种子的寿命和胚胎的脱水耐性有关系，研究发现这些进程有可能是生长素参与调节的（Carranco 等，2010）。最近的研究表明：与 *WRKY68* 亲缘关系最近的 *WRKY23* 与拟南芥根发育过程中生长素的分布有关，*WRKY23* 在根尖中表达，而且其表达水平与生长素的浓度有密切的关系（Grunewald 等，2012）。

我们的实验数据表明 *WRKY68* 受激素 IAA 和高温的诱导，结合 *WRKY68* 在根中、幼嫩的叶片和老的荚果中的表达量相对较高，我们推测 *WRKY68* 可能参与温度和生长素调控的植物形态的建成和发育，有关分子机制方面需进一步深入研究。

〔参 考 文 献〕

Carranco R, Espinosa JM, Prieto-Dapena P *et al.*, 2010. Repression by an auxin/indole acetic acid protein connects auxin signaling with heat shock factormediated seed longevity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107** (50): 21908—21913

Chen LG, Zhang LP, Yu DQ, 2010. Wounding-induced *WRKY8* is involved in basal defense in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **23** (5): 558—565

Chen YF, Li LQ, Xu Q *et al.*, 2009. The WRKY6 transcription factor modulates PHOSPHATE1 expression in response to low Pi stress in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, **21** (11): 3554—3566

Clough SJ, Bent AF, 1998. Floral dip: a simplified method for Agrobacterium-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, **16** (6): 735—743

Devaiah BN, Karthikeyan AS, Raghothama KG, 2007. WRKY75 transcription factor is a modulator of phosphate acquisition and root development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, **143** (4): 1789—1801

Dong JX, Chen CH, Chen ZX, 2003. Expression profiles of the *Arabidopsis WRKY* gene superfamily during plant defense response [J]. *Plant Molecular Biology*, **51** (1): 21—37

Eulgem E, Rushton PJ, Robatzek S *et al.*, 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors [J]. *Trends in Plant Science*, **5** (5): 199—206

Eulgem T, 2005. Regulation of the *Arabidopsis* defense transcriptome [J]. *Trends in Plant Science*, **10** (2): 71—78

Grunewald W, Karimi M, Wieczorek K *et al.*, 2008. A role for *AtWRKY23* in feeding site establishment of plant-parasitic nematodes [J]. *Plant Physiology*, **148** (1): 358—368

Grunewald W, Smet ID, Lewis DR *et al.*, 2012. Transcription factor WRKY23 assists auxin distribution patterns during *Arabidopsis* root development through local control on flavonol biosynthesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109** (5): 1554—1559

Hammargren J, Rosenquist S, Jansson C *et al.*, 2008. A novel connection between nucleotide and carbohydrate metabolism in mitochondria: sugar regulation of the *Arabidopsis* nucleoside diphosphate kinase 3a gene [J]. *Plant Cell Reports*, **27** (3): 529—534

Hu YR, Dong QY, Yu DQ, 2012. *Arabidopsis WRKY46* coordinates with *WRKY70* and *WRKY53* in basal resistance against pathogen *Pseudomonas syringae* [J]. *Plant Science*, **185** (186): 288—

297

Ishida T, Hattori S, Sano R *et al.*, 2007. *Arabidopsis* TRANSPARENT TESTA GLABRA2 is directly regulated by R2R3 MYB transcription factors and is involved in regulation of GLABRA2 transcription in epidermal differentiation ［J］. *The Plant Cell*, **19** (8): 2531—2543

Jiang YQ, Deyholos MK, 2009. Functional characterization of *Arabidopsis* NaCl-inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses ［J］. *Plant Molecule Biology*, **69** (1-2): 91—105

Jiang WB, Yu DQ, 2009. *Arabidopsis* WRKY2 transcription factor mediates seed germination and postgermination arrest of development by abscisic acid ［J］. *BMC Plant Biology*, **9** (96): 1471—1485

Johnson CS, Kolevski B, Smyth DR, 2002. TRANSPARENT TESTA GLABRA2, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor ［J］. *The Plant Cell*, **14** (6): 1359—1375

Lai ZB, Wang F, Zheng ZY *et al.*, 2011. A critical role of autophagy in plant resistance to necrotrophic fungal pathogens ［J］. *The Plant Journal*, **66**: 953—968

Lee SH, Cho HT, 2006. PINOID positively regulates auxin efflux in *Arabidopsis* Root hair cells and tobacco cells ［J］. *The Plant Cell*, **18** (7): 1604—1616

Li SJ, Fu QT, Chen LG *et al.*, 2011. *Arabidopsis thaliana* WRKY25, WRKY26, and WRKY33 coordinate induction of plant thermotolerance ［J］. *Planta*, **233** (6): 1237—1252

Li SJ, Zhou X, Chen LG *et al.*, 2010. Functional characterization of *Arabidopsis thaliana WRKY39* in heat stress ［J］. *Molecules and Cells*, **29** (5): 475—483

Luo M, Dennis ES, Berger F *et al.*, 2005. *MINISEED3* (*MINI3*), a WRKY family gene, and *HAIKU2* (*IKU2*), a leucine-rich repeat (LRR) *KINASE* gene, are regulators of seed size in *Arabidopsis* ［J］. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102** (48): 17531—17536

Miao Y, Zentgraf U, 2007. The antagonist function of *Arabidopsis WRKY53* and *ESR/ESP* in leaf senescence is modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium ［J］. *The Plant Cell*, **19** (3): 819—830

Noutoshi Y, Ito T, Seki M *et al.*, 2005. A single amino acid insertion in the WRKY domain of the *Arabidopsis* TIR—NBS—LRR—WRKY-type disease resistance protein SLH1 (sensitive to low humidity 1) causes activation of defense responses and hypersensitive cell death ［J］. *The Plant Journal*, **43** (6): 873—888

Oshino T, Miura S, Kikuchi S *et al.*, 2011. Auxin depletion in barley plants under high-temperature conditions represses DNA proliferation in organelles and nuclei via transcriptional alterations ［J］. *Plant, Cell and Environment*, **34** (2): 284—290

Qiu YP, Jing SJ, Fu J *et al.*, 2004. Cloning and analysis of expression profile of 13 *WRKY* genes in rice ［J］. *Chinese Science Bull*, **49**: 2159—2168

Robatzek S, Somssich IE, 2002. Targets of *AtWRKY6* regulation during plant senescence and pathogen defense ［J］. *Genes & Development*, **16** (9): 1139—1149

Rogg LE, Bartel B, 2001. Auxin signaling: derepression through regulated *Proteolysis* ［J］. *Developmental Cell*, **1** (5): 595—604

Wiśniewska J, Xu J, Seifertová D *et al.*, 2006. Polar PIN localization directs auxin flow in plants ［J］. *Science*, **312** (5775): 883—885

Yang PZ, Chen CH, Wang ZP *et al.*, 1999. A pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding activity recognizes the elicitor response element of the tobacco class I chitinase gene promoter ［J］. *The Plant Journal*, **18** (2): 141—149

Yu DQ, Chen CH, Chen ZX, 2001. Evidence for an important role of WRKY DNA binding protein in the regulation of *NPR1* gene expression ［J］. *The Plant Cell*, **13**: 1527—1539

Yu DQ (余迪求), Chen LG (陈利钢), Zhang LP (张利平), 2006. Transcription factor WRKY superfamily: Origin, structure and function ［J］. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **28** (1): 69—77

Zentgraf U, Laun T, Miao Y, 2010. The complex regulation of *WRKY53* during leaf senescence of *Arabidopsis thaliana* ［J］. *European Journal of Cell Biology*, **89**: 133—137

Zou CS, Jiang WB, Yu DQ, 2010. Male gametophyte-specific WRKY34 transcription factor mediates cold sensitivity of mature pollen in *Arabidopsis* ［J］. *Journal of Experimental Botany*, **61** (14): 3901—3914

Zheng ZY, Qamar SA, Chen ZX *et al.*, 2006. *Arabidopsis* WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens ［J］. *The Plant Journal*, **48** (4): 592—605

Zhou X, Jiang YJ, Yu DQ, 2011. WRKY22 transcription factor mediates dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis* ［J］. *Molecules and Cells*, **31** (4): 303—313